

**PENDEKATAN BIOINFORMATIKA BERBASIS PENELITIAN ANALISIS PROFIL
PROTEIN CARBONIC ANHYDRASE II YANG BERPOTENSI SEBAGAI
KANDIDAT PENYEBAB AUTIS UNTUK VARIASI PEMBELAJARAN
MATAKULIAH BIOTEKNOLOGI**

*Bioinformatics Approach Based Research of Profile Protein Carbonic Anhydrase II Analysis as a
Potential Candidate Cause Autism for The Variation of Learning Subjects Biotechnology*

Dian Eka A. F. Ningrum¹, Mohamad Amin², Betty Lukiaty³

^{1,2,3}Pascasarjana Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5, Malang, 551334

e-mail korespondensi: ningrumdianeka@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kebutuhan variasi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi dengan menggunakan pendekatan bioinformatika. Salah satu contoh aplikatif penggunaan bioinformatika dalam matakuliah bioteknologi yaitu analisis profil protein carbonic anhydrase II yang berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif yang terdiri atas 2 tahap. Data tahap pertama diperoleh dari observasi pembelajaran, angket mahasiswa, dan angket dosen. Hasil dari tahap pertama yaitu perlu adanya variasi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi menggunakan bioinformatika. Pengumpulan data pada tahap kedua menggunakan 3 webservice untuk memprediksi protein target dan artikel ilmiah. Visualisasi protein menggunakan software PyMol. Berdasarkan 3 webservice yang digunakan, kandidat protein target terkait autisme adalah carbonic anhydrase II. Hasil penelitian diketahui bahwa protein carbonic anhydrase II berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme karena tergolong metaloenzim yang mampu berikatan dengan logam berat. Kandungan logam berat pada penderita autisme tinggi sehingga berpengaruh pada metabolisme tubuhnya. Prediksi tentang protein kandidat penyebab autisme ini merupakan aplikasi penggunaan teknologi dalam upaya menyelesaikan masalah di masyarakat, sehingga dapat memenuhi capaian pembelajaran dalam matakuliah Bioteknologi.

Kata Kunci: *bioinformatika, carbonic anhydrase II, autisme, bioteknologi*

ABSTRACT

This study aims to determine the needs of learning variations on Biotechnology courses using bioinformatics approaches. One example of applied use of bioinformatics in biotechnology course is the analysis of protein profiles carbonic anhydrase II as a potential cause of autism candidate. This research is a qualitative descriptive study consisted of two phases. The first phase of the data obtained from observations of learning, student questionnaires, and questionnaires lecturer. Results from the first phase, namely the need for variations learning in Biotechnology course using bioinformatics. Collecting data on the second stage uses three webservice to predict the target protein and scientific articles. Visualization of proteins using PyMOL software. 3 based webservice which is used, the candidate of target proteins associated with autism is carbonic anhydrase II. The survey results revealed that the protein carbonic anhydrase II as a potential candidate for the cause of autism classified metaloenzyme are able to bind with heavy metals. The content of heavy metals in autistic patients high that affect metabolism. This prediction of protein candidate cause autism is applied use to solve the problem in society, so that can achieve the learning outcome in biotechnology course.

Keywords: *autism, bioinformatics, biotechnology, carbonic anhydrase II*

Bioteknologi merupakan cabang ilmu Biologi yang sangat erat kaitannya dengan teknologi. Bioteknologi didefinisikan sebagai ilmu pengetahuan yang menggunakan makhluk hidup atau turunannya untuk keuntungan manusia baik

berupa produk atau jasa dalam mengatasi masalah (Thieman & Palladino, 2013). Bioteknologi menjadi semakin berkembang seiring kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK). Salah satu cabang dari Bioteknologi yaitu bioinformatika.

Bioinformatika merupakan cabang Bioteknologi yang menggunakan komputer untuk menganalisis dan mengelola data DNA maupun protein (Thieman & Palladino, 2013). Tiga unsur dalam kegiatan analisis bioinformatika yaitu pusat data atau *database*, analisis data, prediksi (Witarto & Sajidan, 2010). Terdapat 3 tujuan utama penggunaan bioinformatika, yaitu (1) mengorganisasikan data, baik mengakses data yang sudah ada atau menambahkan data baru; (2) mengembangkan alat dan sumber daya untuk membantu menganalisis data; dan (3) menggunakan alat untuk menganalisis data dan menginterpretasikan hasil sesuai dengan istilah dalam Biologi (Luscombe *et al.*, 2001). Pada penerapannya bioinformatika menggunakan *software* dan *database online*. Pembelajaran menggunakan pendekatan bioinformatika dalam bidang Bioteknologi menjadi penting karena sesuai dengan perkembangan zaman.

Bioteknologi menjadi salah satu matakuliah yang dikaji oleh mahasiswa S1 Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang. Mahasiswa sebagai agen pembaharuan diharapkan dapat memberikan solusi terkait masalah di kehidupan sehari-hari. Kualifikasi mahasiswa S1 yang berada di level 6 berdasarkan jenjang pada KKNi, yaitu mahasiswa mampu memanfaatkan IPTEKS dalam bidang keahliannya dan mampu beradaptasi terhadap situasi yang dihadapi dalam penyelesaian masalah. Menurut Zunaidah & Amin (2016) sistem pembelajaran Bioteknologi yang memadai akan sangat membantu mahasiswa untuk memahami setiap materi yang disampaikan oleh dosen.

Bioteknologi dapat dijadikan solusi masalah pangan, obat, dan energi (Sunarko, 2015). Masalah semakin tingginya kebutuhan obat disebabkan peningkatan populasi dan pergeseran komposisi penduduk (Sparringa, 2016). Salah satu kelainan yang perlu diperhatikan dewasa ini yaitu autisme.

Autisme merupakan kelainan perkembangan syaraf yang cukup banyak jumlah penderitanya belakangan ini. Menurut Autism and Developmental Disabilities Monitoring (2014) di Amerika 1 dari 68 atau 1,5% anak berumur 8 tahun teridentifikasi autisme. Data juga menunjukkan bahwa anak laki-laki 4,5 kali teridentifikasi autisme daripada anak perempuan. Data di Indonesia menurut Direktorat PKLK Dikdas Kemdikbud (2014) pada tahun 2013 diperkirakan terdapat lebih dari 112.000 anak yang menderita autisme dalam usia 5-19 tahun.

Kasus autisme yang cukup banyak menyebabkan autisme menjadi perhatian masyarakat untuk lebih mendalami. Autisme sebagai suatu kelainan pada tubuh manusia dapat ditinjau dari gejala, faktor penyebab, dan cara menanggulungnya. Gejala yang ditunjukkan oleh penderita autisme cukup beragam, seperti gangguan interaksi sosial, gangguan komunikasi, minat yang terbatas, tingkah laku yang berulang (Theoharides *et al.*, 2012; Siniscalco *et al.*, 2013), gangguan tidur seperti insomnia (Veatch *et al.*, 2015), dan penurunan daya belajar serta daya tangkap (Theoharides *et al.*, 2012).

Autisme dikatakan sebagai kelainan yang kompleks (Hyman 2008; Careaga *et al.*, 2010; Kaushik *et al.*, 2015), bahkan seperti puzzle (Shaw 2008; Yasko 2009). Hal ini dikarenakan penyebab terjadinya autisme berbeda antara satu penderita dengan penderita lainnya. Salah satu yang diduga

sebagai penyebab autisme adalah adanya gangguan pada metabolisme tubuh, yaitu penyerapan zinc, sehingga pada anak autisme kandungan zinc rendah (Langford, 2004; Seneff *et al.*, 2013). Zinc merupakan kofaktor bagi protein carbonic anhydrase II (Lionetto *et al.*, 2016).

Analisis profil protein carbonic anhydrase II yang berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme dapat dilakukan secara *in silico*. Metode penelitian *in silico* merupakan metode yang memanfaatkan komputer sebagai alat serta *databases* dan *software* dalam memprediksi protein target (Alvarez & Shoichet 2005; Zheng *et al.*, 2011).

Tujuan penelitian ini adalah memperoleh variasi pembelajaran untuk matakuliah bioteknologi dengan menggunakan pendekatan bioinformatika. Salah satu contoh aplikatif penggunaan bioinformatika di matakuliah bioteknologi yaitu analisis profil protein carbonic anhydrase II yang berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme.

METODE

Penelitian ini terdiri atas dua tahap penelitian. Kedua jenis penelitian yaitu deskriptif kualitatif. Penelitian tahap pertama dilakukan untuk mengetahui kondisi pembelajaran dalam matakuliah Bioteknologi. Data diperoleh dari observasi pembelajaran, angket mahasiswa, dan angket dosen. Pengambilan data dilakukan pada bulan September 2016. Subyek penelitian yaitu mahasiswa dan dosen Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang dengan sampel eksperimen adalah 20 mahasiswa yang telah menempuh matakuliah Bioteknologi dan 1 dosen pengampu matakuliah

Bioteknologi. Analisis data dilakukan secara deskriptif.

Penelitian tahap kedua dilakukan untuk mengolah dan menginterpretasikan data yang didapat dari *webserver* dan *software* yang digunakan serta artikel-artikel pada jurnal. Penelitian ini menggunakan 3 *webserver*, yaitu PharmMapper, SwissTargetPrediction, dan SuperPred. Visualisasi 3D protein menggunakan *software* PyMol. Analisis data hasil *output* dari 3 *webserver* dilakukan dengan menganalisis prediksi protein target yang sama dari 3 *webserver* tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari observasi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi yaitu (1) proses pembelajaran dilakukan dengan presentasi, diskusi, dan ceramah dari dosen; (2) tidak semua mahasiswa memiliki buku ajar yang disarankan oleh dosen, sehingga masih banyak mahasiswa yang mencari informasi dari internet dengan sumber yang kurang *credible* seperti dari *Blogspot* ataupun *Wordpress*; (3) mahasiswa belum mengenal bioinformatika yang merupakan cabang dari bioteknologi.

Hasil dari angket yang diberikan pada dosen pengampu matakuliah Bioteknologi yaitu (1) kompetensi yang diharapkan dicapai oleh mahasiswa setelah mengikuti matakuliah Bioteknologi yaitu mahasiswa mampu mengetahui tentang prinsip-prinsip bioteknologi, teknik-teknik dalam bioteknologi dan aplikasi serta dampak dari bioteknologi; (2) metode pembelajaran yang digunakan yaitu inkuiri dan diskusi; (3) hal yang perlu diperbaiki atau ditingkatkan dari matakuliah Bioteknologi yaitu memberikan atau

menggunakan berbagai metode atau model pembelajaran supaya tercapai kompetensi yang diharapkan; (4) belum ada materi bioinformatika, sehingga penambahan materi diperlukan untuk meningkatkan pengetahuan mahasiswa.

Hasil dari angket yang diberikan pada mahasiswa yang telah menempuh matakuliah Bioteknologi yaitu (1) strategi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi yaitu makalah-presentasi-diskusi serta kegiatan laboratorium; (2) sebesar 60% responden menyatakan mengalami kesulitan dalam matakuliah Bioteknologi, kesulitan tersebut meliputi tidak memiliki buku teks yang disarankan dosen, mencari dan menganalisis artikel pada jurnal terkait topik bioteknologi, serta mengalami kesulitan saat kegiatan laboratorium; (3) sebesar 75% responden menyatakan kesulitan dalam kegiatan laboratorium, kesulitan tersebut meliputi cara penggunaan alat serta prosedur kerja; (4) sebesar 50% responden menyatakan tidak mengetahui tentang bioinformatika, sedangkan sebesar 80% responden yang menyatakan mengetahui bioinformatika mengalami kesalahan konsep tentang bioinformatika; (5) sebesar 100% responden menyatakan perlu ditambahkan bioinformatika dalam matakuliah Bioteknologi karena dapat membantu mempelajari bioteknologi, menarik dipelajari, pembelajaran abad 21 yang memanfaatkan teknologi, variasi dalam pembelajaran dan menambah pengetahuan.

Berdasarkan hasil dari observasi pembelajaran serta angket mahasiswa dan dosen dapat disimpulkan bahwa perlu adanya variasi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi. Variasi pembelajaran dapat dilakukan dengan

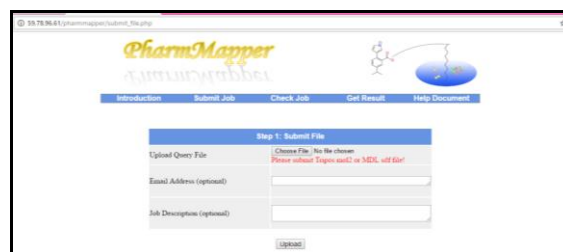
penggunaan bioinformatika dalam matakuliah Bioteknologi.

Contoh aplikasi penggunaan bioinformatika dalam matakuliah Bioteknologi yaitu menganalisis profil suatu protein dalam tubuh yang berkaitan dengan penyakit tertentu. Hal ini dapat diterapkan dalam pembelajaran matakuliah Bioteknologi pada pokok bahasan “Bioteknologi Bidang Farmasi dan Kedokteran”, sehingga dapat memberi gambaran pada mahasiswa mengenai manfaat belajar bioteknologi khususnya menggunakan bioinformatika.

Salah satu contoh aplikatif penggunaan bioinformatika dalam matakuliah bioteknologi yaitu analisis profil protein carbonic anhydrase II yang berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme. Hasil dari penelitian ini berupa prediksi protein target dari 3 *webservice* yang digunakan. *Webservice* tersebut, yaitu:

a. PharmMapper

PharmMapper (Gambar 1) merupakan *server* yang mengidentifikasi target senyawa yang berpotensi sebagai obat dengan menggunakan pendekatan pemetaan farmakopor. Farmakopor merupakan bagian dari suatu senyawa yang berinteraksi dengan reseptor khusus (PharmMapper, 2015).



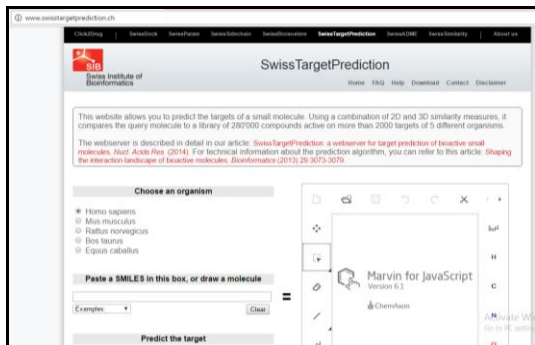
Gambar 1. Tampilan *Webserver* PharmMapper (PharmMapper, 2015)

b. SwissTargetPrediction

SwissTargetPrediction (Gambar 2) adalah satu alat *online* untuk memprediksi

Disubmit: November 2016
Direvisi: Februari 2017
Disetujui: Februari 2017

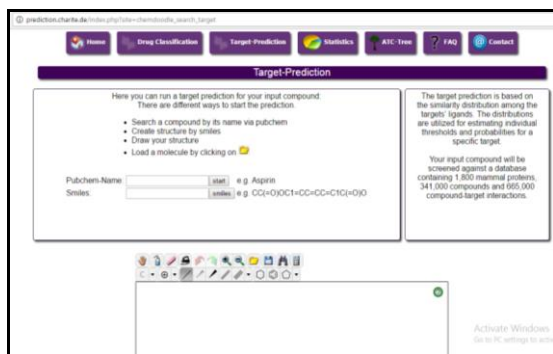
target dari molekul bioaktif kecil pada manusia dan vertebrata lain. Ini berguna untuk memahami mekanisme molekuler yang mendasari fenotip atau aktivitas biologis, untuk menerapkan sisi yang mungkin atau untuk memprediksi target molekul yang telah diketahui (SwissTargetPrediction, 2013).



Gambar 2. Tampilan Webserver SwissTargetPrediction (SwissTargetPrediction, 2013)

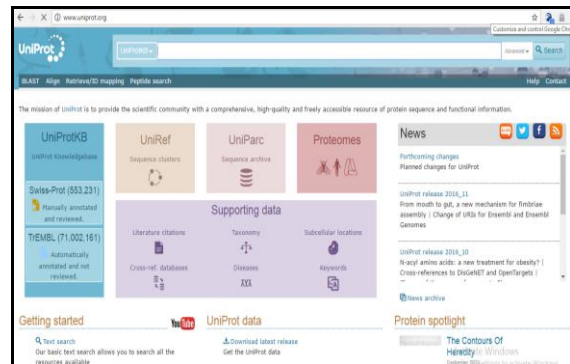
c. SuperPred

SuperPred adalah server yang mampu memprediksi interaksi protein target dengan suatu senyawa berdasarkan kemiripan struktur antara struktur yang ingin kita prediksi targetnya dengan struktur obat-obatan yang telah disetujui oleh FDA maupun senyawa-senyawa non-obat yang telah dianalisis secara in vitro dan in vivo (Dunkel, *et al.*, 2008; Gfeller, *et al.*, 2014). Tampilan Webserver SuperPred disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Tampilan Webserver SuperPred (SuperPred, 2014)

Hasil prediksi protein target dari 3 webserver yang digunakan disajikan pada Tabel 1. Prediksi protein target tersebut dilengkapi dengan beberapa informasi dari database protein yaitu UniProt, seperti disajikan pada Gambar 4.



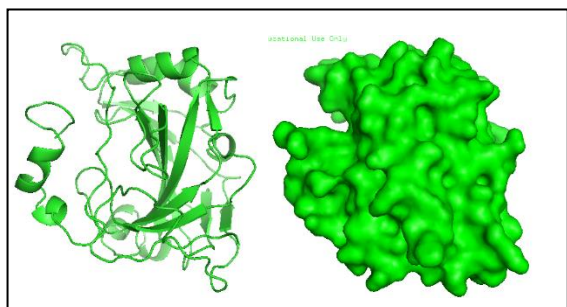
Gambar 4. Tampilan Database UniProt (UniProt, 2016)

Tabel 1. Tabulasi Prediksi Protein Target dari 3 Webserver

No	Protein	Gene ID	Uniprot ID	Webserver		
				P	Su	ST
1	Aldose reductase	AKR1B1	P15121-ALDR_HUMAN	√	√	-
2	Carbonic anhydrase 2	CA2	P00918-CAH2_HUMAN	√	√	√
3	Stromelysin-1	MMP3	P08254-MMP3_HUMAN	√	-	√
4	PEX	PEX14	O75381-PEX14_HUMAN	-	√	√
5	Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917-LOX5_HUMAN	√	√	-
6	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	P14061-DHB1_HUMAN	√	√	-

Ket: PM: PharmMapper;
SuP: SuperPred;
STP: SwissTargetPrediction

Berdasarkan hasil dari 3 webserver diperoleh prediksi protein target yaitu carbonic anhydrase II. Struktur 3 dimensi protein carbonic anhydrase II disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Visualisasi Struktur 3D Protein Carbonic Anhydrase II menggunakan Pymol (PDB, 2015)

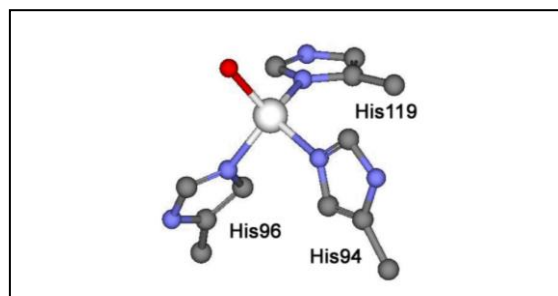
Protein carbonic anhydrase II merupakan *metalloenzyme* (Hassan *et al.*, 2013; Lionetto *et al.*, 2016). Hal ini dikarenakan enzim ini mengandung zinc (Zn) (Hassan *et al.*, 2013). Zinc membantu carbonic anhydrase II dalam tubuh untuk mengkatalis reaksi CO_2 dan H_2O menjadi ion bicarbonate (HCO_3^-) (Song *et al.*, 2014). Fungsi dari carbonic anhydrase II adalah untuk meregulasi keseimbangan pH dan air sebagai bentuk homeostatis, vasodilatasi dan beberapa jalur metabolisme (Kida *et al.*, 2006).

Carbonic anhydrase II merupakan enzim yang terletak di sitosol (Hassan *et al.*, 2013), sel darah merah serta beberapa jaringan sekresi seperti pada saluran pencernaan, ginjal, paru-paru, mata, *Center Neural System* (CNS) (Sarikaya *et al.*, 2010), pada otak manusia terletak di oligodendrosit, myelin, dan choroid plexus epithelium (Kida *et al.*, 2006).

Carbonic anhydrase II terdiri atas 3 ligan histidine (His94, His96, His119), Zn yang berikatan ditengah dan molekul air sebagai ligan (Hassan *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014; Lionetto *et al.*, 2016). Hal ini secara ringkas sebagaimana disajikan pada Gambar 7.

Carbonic anhydrase II memiliki sisi aktif yang berikatan dengan zinc (Zn^{2+}). Sisi aktif dari carbonic anhydrase II dapat

mudah berikatan dengan logam berat lain seperti Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , dan Hg^{2+} (Lionetto *et al.*, 2016).



Gambar 7. Struktur Carbonic Anhydrase II pada Manusia, Zn berikatan pada tengah sisi aktif, 3 ligan histidine, dan molekul air (warna merah) (Song *et al.*, 2014)

Logam berat dapat menjadi *cofactor* bagi carbonic anhydrase, namun juga dapat menjadi *inhibitor* bagi aktivitas carbonic anhydrase (Lionetto *et al.*, 2016). Kandungan logam berat yang tinggi pada tubuh mengakibatkan gangguan pada metabolisme tubuh, salah satunya yaitu munculnya gejala kelainan seperti autisme. Logam berat menyebabkan efek racun sehingga dapat meningkatkan gejala autisme (Blaurock-busch *et al.*, 2012).

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlu adanya variasi pembelajaran pada matakuliah Bioteknologi. Salah satu variasi yaitu dengan menerapkan bioinformatika. Hasil analisis menunjukkan bahwa protein carbonic anhydrase II berpotensi sebagai kandidat penyebab autisme.

Hasil penelitian ini dapat dilengkapi dengan dikembangkannya buku ajar berbasis penelitian bioinformatika untuk digunakan oleh mahasiswa yang menempuh matakuliah Bioteknologi. Hasil analisis profil protein sebagai kandidat penyebab autisme dengan teknik *in silico* dapat

digunakan sebagai dasar untuk melakukan penelitian *in vitro*.

DAFTAR RUJUKAN

- Autism and Developmental Disabilities Monitoring. (2014). *Community report on autism 2014*. United States Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention (CDC).
- Blaurock-busch, E., Amin, O.R., Dessoki, H.H., & Rabah, T., (2012). Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism. *Maedica*, 7 (1), 38–48.
- Careaga, M., Water, J. Van D. & Ashwood, P., (2010). Immune dysfunction in autism: a pathway to treatment. *Neurotherapeutics*, 7 (3), 283–292.
- Direktorat PKLK Dikdas Kemdikbud. (2014). *Standard pelayanan minimal pusat layanan autis*. Jakarta: Direktorat Pendidikan Khusus dan Layanan Khusus Dirjen Dikdas Kemdikbud.
- Dunkel, M., Gunther, S., Ahmed, J., Wittig, B., & Preissner, R. (2008). SuperPred: Drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Research*, 36: 55–59.
- Gfeller, D., grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michiellin, O., & Zoete, V. (2014). SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 42: 32–38.
- Hassan, M. I., Shajee, B., Waheed, A., Ahmad, F., & Sly, W.S. (2013). Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes. *Bioorganic & Medical Chemistry*, 21: 1570–1582.
- Hyman, M., (2008). Autism: is it all in the head? *Alternative Therapies*, 14 (6), 12–18.
- Kaushik, G., Thomas, M. A. & Aho, K. A. (2015). Psychoactive pharmaceuticals as environmental contaminants may disrupt highly inter-connected nodes in an Autism-associated protein-protein interaction network. *BioMed Central*, 16: 1–9.
- Kida, E., Palmieriello, S., Golabek, A. A., Walus, M., Bobrowicz, T. W., Rabe, T., Albertini, G., & Wisniewski, K. E. (2006). Carbonic Anhydrase II in the developing and adult human brain. *Journal Neuropathol Exp Neurol*, 65 (7), 664–674.
- Langford, W. S. (2004). *A comprehensive guide to managing autism a comprehensive guide to mastering autism*. USA: KickStart.
- Lionetto, M. G., Caricato, R., Giordano, M. E., & Schettino, T. (2016). The complex relationship between metals and carbonic anhydrase : new insights and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 17: 1-14.
- Luscombe, N. M., Greenbaum, D. & Gerstein, M., (2001). *Review: What is bioinformatics? An introduction and overview*. Yale University, New Haven, USA: Yearbook of Medical Informatics 2001.
- PDB. (2011). *Protein data bank*. Retrieved from <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.
- PharmMapper, (2015). *PharmMapper*. Retrieved from <http://59.78.96.61/pharmmapper/>.
- Sarikaya, S. B. O., Gulcin, I., & Supuran, C. T. (2010). Carbonic Anhydrase Inhibitors: Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a Series of Phenolic Acids. *Chemical Biology & Drug Design*, 75: 515-520.
- Seneff, S., Lauritzen, A., Davidson, R. M., & Lentz-Marino, L. (2013). Is encephalopathy a mechanism to

- renew sulfate in autism?. *Entropy*, 15: 372–406.
- Shaw, W. (2008). *Biological Treatments for Autism and PDD*, United States of America.
- Siniscalco, D., Cirillo, A., Bradstreet, J. J., & Antonucci, N. (2013). Epigenetic findings in autism: New perspectives for therapy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10: 4261–4273.
- Song, H., Wilson, D. L., Farquhar, E. R., Lewis, E. A., & Emerson, J. P. (2014). Revisiting zinc coordination in human Carbonic Anhydrase II. *National Institute of Health*, 51 (20), 11098–11105.
- Sparringa, R. A. (2016). *Laporan tahunan Badan POM 2015*. Jakarta: Badan POM
- Sunarko, B. (2015). *Bioteknologi solusi masalah pangan, obat dan energi*. Retrieved from <http://lipi.go.id/berita/single/Bioteknologi-Solusi-Masalah-Pangan-Obat-dan-Energi/10991>.
- SuperPred. (2014). *SuperPred*. Retrieved from <http://prediction.charite.de/>.
- SwissTargetPrediction. (2013). *SwissTargetPrediction*. Retrieved from <http://www.swisstargetprediction.ch>.
- Theoharides, T. C., Angelidou, A., Alysandratos, K., Zhang, B., & Asadi, S. (2012). Mast cell activation and autism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822: 34–41.
- Thieman, W. J & Palladino, M. A., (2013). *Introduction to biotechnology*. USA: Pearson Education.
- Uniprot. (2016). *UniProt*. Retrieved from <http://www.uniprot.org/uniprot/P00918>.
- Veatch, O.J., Maxwell-horn, A.C. & Malow, B.A., (2015). Sleep in autism spectrum disorders. *Curr Sleep Medicine Rep*, 1: 131–140.
- Witarto, A. B. & Sajidan, (2010, Juli). *Bioinformatika: Trend dan prospek dalam pengembangan keilmuan biologi*. Makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS..
- Yasko, A. (2009). *Autism: Pathways to recovery*, Bethel, Maine: Neurological Research Institute, LLC.
- Zheng, R., Chen, T. & Lu, T. (2011). A comparative reverse docking strategy to identify potential antineoplastic targets of tea functional components and binding mode. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 5200–5212.
- Zunaidah, F. N. & Amin, M. (2016) Pengembangan bahan ajar matakuliah Bioteknologi berdasarkan kebutuhan dan karakter mahasiswa Universitas Nusantara PGRI Kediri. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(1), 19-30.